

Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*

Ragapadmi Purnamaningsih

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

ABSTRACT

Callus Induction and Plant Regeneration of Four Rice Varieties through *In Vitro* Culture. Ragapadmi Purnamaningsih. A study was conducted at the Tissue Culture Laboratory of ICABIOGRAD, Bogor, to obtain an optimum medium formulation for calli regenerations of four rice varieties (Ciherang, Cisadane, IR64, and T-309). The research activities were done in five steps, i.e., callus induction, callus regeneration, shoot multiplication, root formation, and plant acclimatization. The type of explants used in the study was embryogenic explants. Five media formulations were used for the callus induction, while four media formulations were used for the callus regeneration. The results showed that the best medium formulation for induction of callus formation was MS + 2,4-D 2 mg/l + casein hidrolisat 3 mg/l, while the best medium formulation for callus regeneration was MS + BA 3 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l.

Key words: Rice, callus induction, callus regeneration, *in vitro* culture.

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan yang sangat penting karena sampai saat ini beras masih digunakan sebagai makanan pokok bagi sebagian penduduk dunia terutama Asia. Selain itu, di Indonesia beras masih dipandang sebagai produk kunci bagi kestabilan perekonomian dan politik.

Indonesia saat ini menghadapi masalah pangan akibat peningkatan jumlah penduduk yang diikuti oleh banyaknya sawah subur beririgasi di Pulau Jawa yang beralih fungsi menjadi kawasan industri dan permukiman. Selain itu, pengaruh bencana alam berupa kemarau panjang atau banjir yang terjadi hampir setiap tahun menyebabkan produksi beras menurun, sehingga untuk memenuhi keperluan nasional, pemerintah harus mengimpor beras. Krisis perekonomian yang terjadi akhir-akhir ini berdampak terhadap melemahnya daya beli petani terhadap sarana produksi yang harganya melambung tinggi, terutama pupuk dan pestisida. Hal tersebut menyebabkan makin meningkatnya serangan hama dan penyakit yang menyebabkan makin menurunnya produksi padi.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah-masalah tersebut adalah melalui penerapan teknik transformasi gen yang menyandi sifat tertentu, antara lain sifat ketahanan terhadap penyakit/hama tertentu ataupun gen untuk ketahanan terhadap faktor abiotik, antara lain kekeringan. Dengan meningkatnya ketahanan terhadap faktor biotik atau abiotik diharapkan dapat meningkatkan produktivitas padi.

Untuk menghasilkan tanaman transgenik ada beberapa faktor yang berperan, yaitu metode yang efisien dalam mengklon gen, ketersediaan konstruksi gen-gen baru, teknik transformasi, sistem regenerasi tanaman dan sistem vektor yang efisien serta promotor yang spesifik (Aswidinnoor 1995). Tanpa sistem regenerasi tanaman yang efisien, maka akan sulit diperoleh tanaman transgenik yang diinginkan. Metode transformasi yang digunakan harus dapat memasukkan gen *interest* ke dalam sel tanaman yang kompeten untuk diregenerasikan, sehingga sel tersebut dapat tumbuh dan berkembang membentuk planlet/tanaman transgenik yang diharapkan.

Regenerasi tanaman dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu organogenesis (melalui pembentukan organ langsung dari eksplan) dan embriogenesis somatik (melalui pembentukan embrio somatik). Dibandingkan dengan embriogenesis, organogenesis mempunyai keunggulan, yaitu peluang terjadinya mutasi lebih kecil, metodenya lebih mudah dan tidak memerlukan subkultur berulang sehingga tidak menurunkan daya regenerasi dari kalus. Namun demikian, untuk keperluan transformasi genetik, cara embriogenesis lebih dianjurkan karena tanaman yang diperoleh berasal dari satu sel somatik sehingga peluang diperolehnya transforman lebih tinggi. Embrio somatik biasanya berasal dari sel tunggal yang kompeten dan berkembang membentuk fase globular, hati, torpedo dan akhirnya menjadi embrio somatik dewasa yang siap ditanam bahkan membentuk planlet.

Hasil-hasil penelitian tentang metode induksi kalus dan regenerasi padi subspecies japonica dan javanica telah banyak dilakukan, akan tetapi untuk padi indica masih sedikit informasi yang diperoleh. Dari informasi yang ada ternyata persentase keberhasilan regenerasinya masih rendah dan biasanya belum

reproducible (tidak dapat diulang). Selain itu, regenerasi tanaman melalui kultur *in vitro* bersifat spesifik artinya media yang dapat digunakan untuk meregenerasikan varietas padi tertentu belum tentu dapat digunakan untuk varietas lainnya. Alam *et al.* (1998) menggunakan media regenerasi MS + kinetin 2 mg/l + NAA 0,1 mg/l untuk regenerasi padi indica kultivar Vaidehi. Hasil penelitian Maftuchah (2003) menunjukkan bahwa media induksi kalus terbaik untuk padi Cisadane adalah MS + 2,4-D 2,5 mg/l, sedangkan media regenerasi terbaik adalah MS + BA 0,5 mg/l + IAA 0,7 mg/l dengan rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan 2 tunas/56 hari. Selanjutnya Purnamaningsih (2003) telah menggunakan media MS + BA 5 mg/l + IAA 0,8 mg/l untuk regenerasi padi Rojolele (*javanica*). Setelah dicoba formulasi media tersebut ternyata persentase regenerasi yang diperoleh sangat kecil. Untuk memperoleh hasil yang lebih baik, maka pada penelitian ini dicoba modifikasi formulasi media tumbuh dengan penggunaan zat pengatur tumbuh dengan aktivitas yang kuat serta dengan memodifikasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode dan formulasi media yang tepat untuk menginduksi pembentukan kalus serta regenerasi dan perakaran pada beberapa varietas padi indica.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Kelti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, dari September 2003 sampai dengan Februari 2004.

Eksplan yang digunakan adalah benih padi subspecies indica, yaitu Ciherang, Cisadane, dan IR64 (*indica*). Sebagai pembanding, digunakan tanaman kontrol Taipei 309 (T-309), yaitu padi dari subspecies *japonica*. Media dasar yang digunakan adalah media Murashige Skoog (1962), sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah *benzil adenine* (BA), *2,4-dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D), picloram, thidiazuron, *casein hydrolysate* (CH), dan *indol acetic acid* (IAA). Sebagai sumber karbon digunakan sukrosa 30 g/l, sedangkan agar diberikan sebagai pematat.

Penelitian ini terdiri dari 4 kegiatan, yaitu (1) induksi kalus (2) regenerasi kalus menjadi planlet, (3) multiplikasi tunas dan pembentukan planlet, dan (4) aklimatisasi planlet. Pada kegiatan pertama, digunakan 5 formulasi media dengan tujuan memperoleh kalus yang bersifat embriogenik, yaitu kalus yang mudah diregenerasikan menjadi planlet. Formulasi media yang digunakan adalah (1) MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3000 mg/l, (2) MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l, (3) MS + 2,4-D 20 mg/l, (4) MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l + picloram 5 mg/l, dan (5) MS + picloram 10 mg/l + thidiazuron 0,4 mg/l.

Kegiatan kedua bertujuan untuk meregenerasikan kalus yang diperoleh sehingga menjadi planlet. Kalus yang digunakan adalah kalus yang dihasilkan dari media induksi kalus terbaik. Formulasi media, yaitu (1) MS + BA 3 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l, (2) MS + BA 5 mg/l + thidiazuron 0,4 mg/l, (3) MS + BA 3 mg/l + IAA 0,8 mg/l, (4) MS + BA 3 mg/l + IAA 0,8 mg/l + zeatin 0,1 mg/l, dan (4) MS + BA 3 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l + zeatin 0,1 mg/l. Selanjutnya biakan ditanam pada media regenerasi terbaik selama 2 bulan masa inkubasi untuk melihat daya multiplikasinya. Untuk menginduksi pembentukan akar digunakan media MS + IAA 1 mg/l. Apabila eksplan telah membentuk akar yang sempurna, maka planlet tersebut diaklimatisasi di rumah kaca.

Rancangan yang digunakan adalah faktorial dengan rancangan lingkungan acak lengkap dengan 20 ulangan. Peubah yang diamati adalah persentase pembentukan kalus, ukuran diameter kalus, struktur kalus, persentase kalus yang dapat beregenerasi, daya multiplikasi tunas, jumlah akar serta visual biakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara varietas dengan formulasi media yang digunakan dalam menginduksi pembentukan kalus dan diameter kalus, sedangkan interaksinya tidak berbeda nyata (Tabel 1 dan 2). Kemampuan T-309 paling tinggi dalam membentuk kalus dibandingkan dengan yang lainnya, sedangkan IR64

Tabel 1. Pembentukan kalus dan diameter kalus beberapa varietas padi.

Varietas	Persentase kalus	Diameter kalus (cm)
Taipei 309	70,4a	0,14a
Ciherang	55,0b	0,09b
Cisadane	35,4c	0,06b
IR64	31,6d	0,05b

Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

mempunyai kemampuan paling rendah. Berbedanya kemampuan T-309 dengan yang lainnya disebabkan karena T-309 termasuk ke dalam kelompok padi subspecies japonica sedangkan yang lainnya termasuk ke dalam subspecies indica. Berbagai hal menunjukkan bahwa padi subspecies japonica lebih mudah dan responsif untuk dikulturkan secara *in vitro* daripada padi subspecies indica (Gambar 1).

Pada Tabel 2 terlihat bahwa penggunaan formulasi media MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3000 mg/l, MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l dan MS + 2,4-D 20 mg/l menghasilkan rata-rata pembentukan kalus sebesar 63, 65, dan 68% dan tidak berbeda nyata secara statistik. Kalus yang terbentuk dari media tersebut bersifat remah (*friable*), globular (terbentuk nodul-nodul), dan berwarna bening. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga formulasi media tersebut merupakan media terbaik untuk menginduksi pembentukan kalus untuk semua

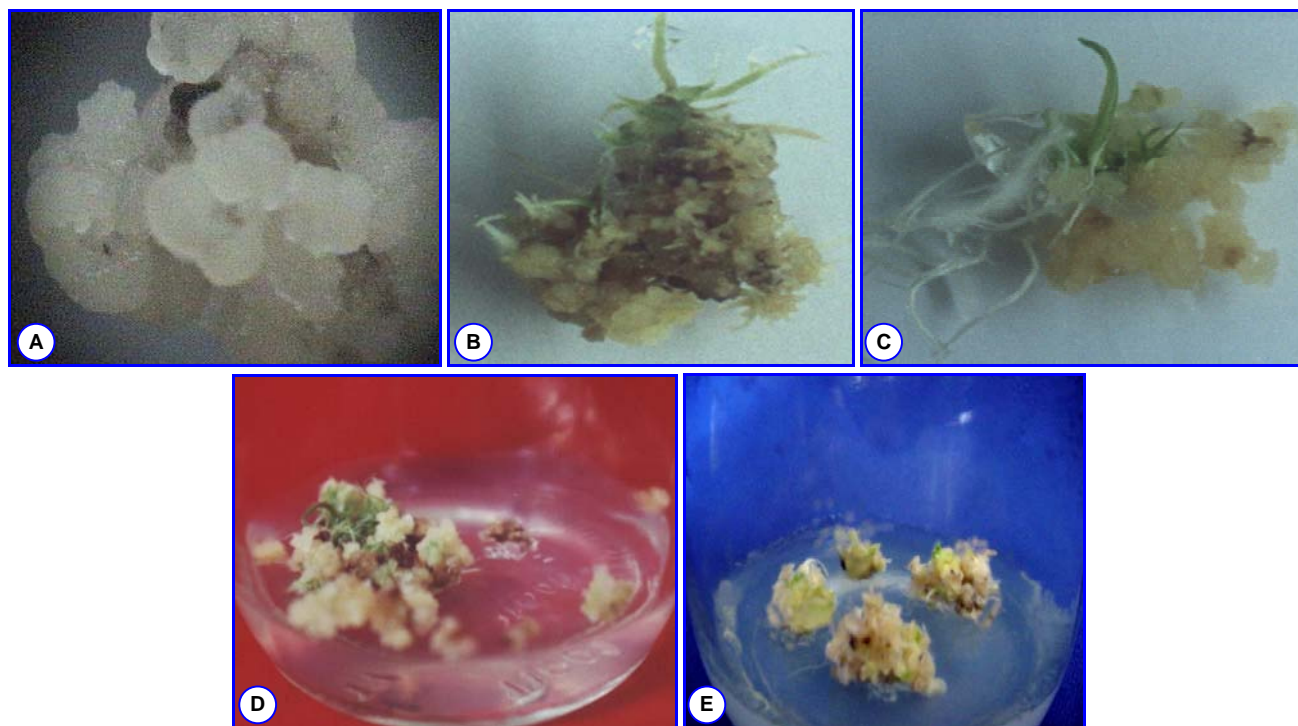
varietas yang digunakan. Formulasi media MS + picloram 10 mg/l + thidiazuron 0,4 mg/l paling rendah dalam menginduksi pembentukan kalus, selain itu kalus yang dihasilkan bersifat kompak.

Menurut Wattimena (1992), zat pengatur tumbuh dari golongan auksin berperan antara lain dalam pembentukan kalus, morfogenesis akar dan tunas serta embriogenesis. Pemilihan konsentrasi dan jenis auksin ditentukan antara lain oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikehendaki. Menurut Sellars *et al.* (1990) penggunaan auksin dengan daya aktivitas kuat (antara lain 2,4-D, NAA atau dikombinasikan dengan sitokinin dengan konsentrasi rendah) umumnya digunakan untuk induksi kalus embriogenik. Selain itu, jenis dan konsentrasi hormon, jenis asam amino serta rasio auksin dan sitokinin sangat menentukan dalam menginduksi pembentukan kalus.

Tabel 2. Pembentukan kalus padi dan diameternya pada beberapa formulasi media.

Zat pengatur tumbuh	Persentase kalus	Diameter kalus (cm)	Visual
2,4-D 2 + CH 3000 mg/l	63,0a	0,09a	Kalus <i>friable</i> , hijau
2,4-D 0,5+ BA 0,5	65,0a	0,14a	Kalus <i>friable</i> , membentuk tunas
2,4-D 0,5 +BA 0,5 + picloram 5	28,8b	0,05b	Kalus <i>friable</i> membentuk tunas
2,4-D 20	68,0a	0,13a	Kalus <i>friable</i> , hijau
Picloram 10 + thidiazuron 0,4	19,0c	0,04b	Kalus kompak membentuk tunas

Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.



Gambar 1. Pembentukan kalus padi T-309 pada beberapa formulasi media. A = MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3000 mg/l, B = 2,4-D 20 mg/l, C = MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l, D = MS + 2,4-D 0,5 + BA 0,5 + picloram 5, E = MS + Picloram 10 + thidiazuron 0,4.

Ukuran diameter kalus T-309 lebih besar dan berbeda nyata dengan Ciherang, Cisadane, dan IR64. Rata-rata kalus T-309 berukuran $0,14 \text{ cm}^2$ sedangkan Ciherang, Cisadane, dan IR64 berukuran $0,09 \text{ cm}^2$; $0,06 \text{ cm}^2$; dan $0,05 \text{ cm}^2$. Hal tersebut menunjukkan bahwa sel-sel kalus T-309 lebih cepat berdiferensiasi daripada ketiga varietas lainnya sehingga ukurannya lebih besar. Sedangkan media MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3000 mg/l, MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l, dan MS + 2,4-D 20 mg/l memberikan pertumbuhan kalus yang lebih cepat dibandingkan media MS + 2,4-D 0,5 mg/l + BA 0,5 mg/l + picloram 5 mg/l dan media MS + picloram 10 mg/l + thidiazuron 4 mg/l. Kemungkinan hal tersebut berhubungan dengan kemampuan masing-masing varietas dalam membentuk kalus serta formulasi media yang digunakan dalam menginduksi pembentukan kalus. Varietas yang lebih responsif menghasilkan ukuran kalus yang lebih besar, demikian pula dengan perlakuan formulasi media yang digunakan.

Banyak peneliti melaporkan bahwa ukuran kalus yang dipindahkan ke media regenerasi juga menentukan keberhasilan regenerasi (Yoshida 1995). Kalus yang berukuran 1-2 mm merupakan kalus yang terbaik untuk dipindahkan ke medium regenerasi, sedangkan kalus yang berukuran kurang dari 1 mm akan sulit beregenerasi atau mati.

Penampilan kalus secara visual menunjukkan bahwa ketiga formulasi media yang terbaik menghasilkan kalus yang remah (*friable*), berwarna bening dan terbentuk nodul-nodul (Gambar 1). Namun demikian, kalus yang diperoleh dengan menggunakan media MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3000 mg/l lebih banyak membentuk nodul-nodul dibandingkan dengan media lainnya sehingga diharapkan dengan menggunakan media tersebut akan diperoleh planlet lebih banyak. Media MS + 2,4-D 0,5 mg + BA 0,5 mg/l menghasilkan kalus dengan ukuran lebih besar, namun kalus tersebut merupakan kalus yang bersifat rhizogenik, yaitu kalus yang lebih cepat membentuk akar daripada tunas. Kemungkinan hal ini disebabkan karena adanya ketidakseimbangan kandungan auksin dan sitokinin (2,4-D dan BA) di dalam eksplan sehingga eksplan lebih dahulu membentuk akar daripada tunas, padahal tunas diperlukan agar tanaman dapat melakukan fotosintesis. Wattimena (1992) menyatakan bahwa morfogenesis tunas dan akar dipengaruhi oleh nisbah auksin dan sitokinin. Nisbah auksin dan sitokinin yang tinggi akan mendorong morfogenesis akar sebaliknya nisbah auksin dan sitokinin yang rendah akan mendorong pembentukan tunas.

Kalus yang non-rhizogenik adalah kalus embriogenik yang dapat beregenerasi menjadi planlet. Pembentukan kalus embriogenik ditentukan oleh sumber

N didalam media. Asam amino merupakan sumber N organik yang cepat diambil oleh tanaman daripada N-anorganik (Gunawan 1988). Selain itu, penambahan asam amino (antara lain glutamin, kasein hidrolisat, atau arginin) pada media yang sudah mengandung auksin dapat meningkatkan keberhasilan pembentukan kalus embriogenik karena di dalam kloroplas asam amino dapat berperan sebagai prekursor untuk pembentukan asam nukleat dan proses selular lainnya.

Regenerasi Kalus

Struktur kalus dari berbagai varietas yang digunakan berbeda-beda tergantung kepada formulasi yang digunakan. Biasanya struktur kalus menggambarkan daya regenerasinya membentuk tunas dan akar. Kalus yang berbentuk globular (nodul-nodul) dan berwarna bening biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna coklat-kehitaman. Dalam hal ini media yang digunakan untuk memacu regenerasi kalus akan sangat menentukan. Keseimbangan nutrisi dalam media tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus maupun diferensiasinya membentuk tunas. Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin didalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen di dalam tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena 1992).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antar berbagai varietas serta formulasi media yang digunakan dalam menginduksi regenerasi tunas dari kalus, sedangkan interaksinya tidak berbeda nyata (Tabel 3 dan 4). Dari Tabel 3 dan 4 terlihat keempat varietas yang digunakan dapat beregenerasi membentuk tunas dengan persentase regenerasi yang berbeda-beda tergantung kepada varietas dan formulasi media yang digunakan. Varietas T-309 mempunyai daya regenerasi paling tinggi dibandingkan dengan Cisadane dan IR64 dan tidak berbeda nyata dengan Ciherang. Dewi (2003) melaporkan bahwa kandungan poliamin kalus padi subspecies *indica* lebih rendah dibandingkan dengan subspecies *japonica*, sebaliknya kandungan ACC dan aktivitas ACC oksidase padi subspecies *indica* lebih tinggi. Pada berbagai tanaman tingkat tinggi diketahui bahwa pembelahan, pembesaran, pemanjangan, dan proliferasi yang cepat pada sel akibat pemberian auksin berhubungan dengan level poliamin (Apelbaum 1990). Diduga hal tersebut menyebabkan padi subspecies *indica* lebih sulit beregenerasi daripada *japonica*.

Respon varietas yang digunakan tampaknya berbeda-beda terhadap formulasi media yang digunakan. Penggunaan media MS dengan penambahan BA 3

atau 5 mg/l dikombinasikan dengan thidiazuron 0,1 atau 0,4 mg/l memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan formulasi media lainnya (Tabel 4) di mana persentase kalus pada kedua media tersebut mencapai 76 dan 79%. Pemakaian media MS + BA 3 mg/l + IAA 0,8 mg/l + zeatin 0,1 mg/l tidak memberikan hasil yang baik di mana kalus yang dapat beregenerasi hanya 28%.

Pemilihan zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan diferensiasi jaringan tanaman yang dikulturkan. Untuk meningkatkan keberhasilan regenerasi dan laju pertunasan, di samping sitokinin terdapat komponen organik lainnya yang mempunyai pengaruh fisiologis sama, yaitu thidiazuron. Senyawa organik tersebut merupakan derivat urea yang tidak mengandung rantai purin yang umumnya dimiliki oleh sitokinin. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi BA dan thidiazuron lebih efektif dalam memacu regenerasi dan multiplikasi tunas.

Dilihat dari cara regenerasi kalus menjadi tunas, tampaknya keempat varietas yang digunakan mempunyai kemampuan beregenerasi melalui jalur organogenesis di mana kalus dapat langsung membentuk tunas, dan setelah tunas terbentuk, barulah akar terben-

tuk pada media yang sama. Berbeda halnya dengan jalur embriogenesis, sebelum kalus beregenerasi, maka kalus tersebut harus melewati 2 tahapan, yaitu tahap pendewasaan dan tahap perkecambahan sebelum terbentuk tunas dan akar. Dalam hal ini kalus/sel tersebut mempunyai 2 calon meristem, yaitu meristem tunas dan meristem akar.

Daya regenerasi kalus membentuk tunas sangat ditentukan oleh waktu pemindahan kalus ke media regenerasi. Dalam hal ini masing-masing varietas mempunyai kepekaan yang berbeda-beda untuk bertahan pada media induksi kalus. Varietas T-309, Ciherang, dan Cisadane dapat tetap bertahan selama 45-60 hari di media induksi kalus, sedangkan IR64 hanya dapat bertahan selama 30-40 hari (Tabel 5), dan apabila setelah 40 hari kalus tidak dipindahkan ke media regenerasi maka daya regenerasinya akan menurun/hilang. Tentunya hal ini akan merugikan karena waktu yang dapat digunakan untuk pertumbuhan kalus juga makin sempit, sehingga hal ini akan berpengaruh terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Menurut Chung (1992) umur kalus, yaitu lamanya waktu (hari) sejak kalus diinduksi sampai kalus dipindahkan ke media regenerasi sangat menentukan frekuensi regenerasi. Kemungkinan hal tersebut berhubungan dengan kan-

Tabel 3. Daya regenerasi kalus beberapa varietas padi.

Varietas	Regenerasi (%)
Taipei 309	87,0a
Ciherang	69,0a
Cisadane	40,0b
IR64	40,0b

Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

Tabel 4. Daya regenerasi kalus pada beberapa formulasi media.

Formulasi media (mg/l)	Regenerasi (%)
BA 3 + thidiazuron 0,1	76,0a
BA 5 + thidiazuron 0,4	79,0a
BA 3 + IAA 0,8	40,0bc
BA 3+ IAA 0,8 + zeatin 0,1	28,0c
BA 3 + thidiazuron 0,1 + zeatin 0,1	50,0b

Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

Tabel 5. Waktu pemindahan kalus berbagai varietas padi ke media regenerasi.

Varietas	Waktu pemindahan (hari)
Taipei 309	45-60
Ciherang	45-60
Cisadane	45-60
IR64	30-40

dungan poliamin serta aktivitas ACC oksidase dari masing-masing varietas. Diduga aktivitas ACC oksidase dari IR64 paling tinggi sehingga kandungan poliaminnya paling rendah. Hal tersebut menyebabkan IR64 paling peka dibandingkan varietas lainnya sehingga harus cepat dipindahkan ke media regenerasi agar daya regenerasinya tidak semakin menurun.

Multiplikasi Tunas dan Perakaran

Tunas yang dihasilkan selanjutnya dipindahkan pada media regenerasi terbaik untuk melihat daya multiplikasinya. Dari Tabel 6 terlihat bahwa keempat varietas mempunyai daya multiplikasi tunas yang cukup tinggi, demikian pula kemampuannya dalam membentuk akar (Tabel 7). Dengan demikian, terlihat bahwa faktor yang sangat menentukan adalah regenerasi eksplan menjadi tunas dan apabila telah diperoleh tunas, maka perbanyakan atau multiplikasi tunas dapat dilakukan dengan mudah apabila telah diperoleh formulasi media yang tepat.

Aklimatisasi Planlet di Rumah Kaca

Setelah diperoleh biakan yang berakar, selanjutnya dilakukan pemindahan biakan dari botol kultur ke rumah kaca. Tujuan dari proses aklimatisasi adalah untuk mengadaptasikan tanaman hasil kultur jaringan dengan lingkungan tumbuhnya yang baru. Hal ini disebabkan karena tanaman hasil kultur jaringan telah terbiasa tumbuh pada kondisi lingkungan yang kondusif dengan ketersediaan kandungan hara dan kelembaban yang cukup, sehingga setelah dipindahkan ke rumah kaca tanaman harus beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya yang baru. Dari seluruh tanaman yang diaklimatisasi, ternyata semuanya dapat tumbuh dengan baik walaupun pada awalnya proses pertumbuhan terjadi sangat lambat. Namun demikian, setelah satu bulan semuanya dapat tumbuh dengan baik (Gambar 2).

Tabel 6. Daya multiplikasi tunas beberapa varietas padi umur 2 bulan.

Varietas	Rata-rata jumlah anakan
Taipei 309	8,5
Ciherang	6,2
Cisadane	5,0
IR64	4,5

Tabel 7. Pertumbuhan akar beberapa varietas padi umur 2 bulan.

Varietas	Rata-rata jumlah akar
Taipei 309	6,0
Ciherang	5,2
Cisadane	4,8
IR64	5,0



Gambar 2. Aklimatisasi padi T-309 di rumah kaca, 1 bulan setelah tanam.

KESIMPULAN

1. Formulasi media terbaik untuk menginduksi pembentukan kalus MS + 2,4-D 2 mg/l + CH 3 mg/l.
2. Formulasi media terbaik untuk regenerasi kalus menjadi tunas adalah MS + BA 3 + thidiazuron 0,1 mg/l atau MS + BA 5 mg/l + thidiazuron 0,4 mg/l.
3. Semua varietas yang diujikan (Ciherang, Cisadane, dan IR64) mempunyai kemampuan regenerasi melalui jalur organogenesis pada beberapa macam media yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M.F., K. Datta, E. Abrigo, A. Vasquez, D. Senadhira, and D. Datta, S.K. 1998.** Production of transgenik deep water indica rice plants expressing a synthetic *Bt cryIA(b)* gene with enhance resistance to YSB. *Plant Sci.* 35:25-30.
- Apelbaum, A. 1990.** Interrelationship between polyamines and ethylene and its implication for plant growth and fruit ripening. *In* Flores, H.E., R.N. Arteca, and J.C. Shannon (Eds.). *Polyamines and Ethylene: Biochemistry, Physiology, and Interactions.* Amer. Plant Soc. of Plant Physiol. USA. p. 278-294.
- Aswidinnoor, H. 1995.** Transformasi gen: Sumber baru keragaman genetik dalam pemuliaan tanaman. *Zuriat* 6:56-67.
- Chung, G.S. 1992.** Anther culture for rice improvement in Korea. *In* Zheng K. and T. Murashige (Eds.). *Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p. 8-37.
- Dewi, I.S. 2003.** Peranan fisiologis poliamin dalam regenerasi tanaman pada kultur anther padi (*Oryza sativa*). Disertasi S₃. Institut Pertanian Bogor. 147 hlm.
- Gunawan, L.U. 1988.** Teknik kultur jaringan tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. PAU Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 304 hlm.
- Maftuchah. 2003.** Transformasi genetik padi indica dengan gen *cryIA(b)* menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* untuk ketahanan terhadap hama penggerek batang kuning (*Scirpophaga incertulas* Walker.). Disertasi S₃. Program Studi Agronomi. Institut Pertanian Bogor. 165 hlm.
- Purnamaningsih, R. 2003.** Seleksi *in vitro* tanaman padi untuk ketahanan terhadap aluminium. Thesis S₂. Institut Pertanian Bogor. 59 hlm.
- Sellars, R.M., G.M. Southward, and G.C. Philips. 1990.** Adventitious somatic embryogenesis from culture immature zygotic embryos of peanut and soybean. *Crop Sci.* 30:408-413.
- Yoshida, T. 1995.** Relationship between callus size and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.) anther culture. *JARQ* 29:143-147.
- Wattimena, G.A. 1992.** Bioteknologi Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 308 hlm.
-